

ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫЕ ЦИТОКИНЫ И ЛАКТОФЕРРИН В КРОВИ КРЫС ПРИ ОСТРОМ ОТРАВЛЕНИИ ДЕЛЬТАМЕТРИНОМ И ЭНТЕРОСОРБЦИИ

В.А. ЛИХОЛОБОВ¹, Ю.Н. ФЕДОРОВ², Л.Г. ПЬЯНОВА¹, Л.К. ГЕРУНОВА³,
Т.И. ДОЛГИХ⁴, Т.В. ГЕРУНОВ³

При контакте с пестицидами у животных и человека возникает риск иммунотоксических эффектов, что провоцирует развитие вторичных иммунодефицитов. Пестицидная нагрузка на организм затрудняет серологическую диагностику инфекционных болезней, становясь причиной ложноположительных или отрицательных результатов. Лечение при интоксикациях базируется на методах эфферентной, симптоматической и патогенетической терапии. На модельных объектах (лабораторные беспородные крысы-самцы с массой 180-200 г) мы исследовали модифицированный углеродный энтеросорбент, который получали после его пропитки 15 % раствором аргинина. Энтеросорбция была назначена со 2-х сут после интоксикации, когда всасывание пестицида из желудочно-кишечного тракта в кровь уже произошло, что позволило оценить иммунокорригирующие эффекты модифицированного сорбента, которые обусловлены не непосредственной сорбцией токсиканта в желудочно-кишечном тракте, а его влиянием на интенсивность энтерогепатической и энтерогематической циркуляции пестицида. Нами установлено, что интоксикация крыс дельтаметрином в дозе 17,4 мг/кг ($1/5$ LD₅₀) вызывает повышение в крови уровней IL-1 β , IL-8, TNF- α и лактоферрина. Общее свойство этой группы иммунорегуляторных молекул — их участие в формировании каскада воспалительных реакций, но при чрезмерном увеличении концентрации провоспалительных цитокинов начинают преобладать системные нежелательные процессы, сопровождающиеся гиперкатаболическим и гипердинамическим эффектами. Увеличение концентрации сывороточного лактоферрина при воздействии дельтаметрина можно расценивать как результат развития воспалительного процесса. Энтеросорбция с использованием модифицированного аргинином углеродного сорбента нивелировала отмеченные изменения.

Ключевые слова: дельтаметрин, провоспалительные цитокины, лактоферрин, модифицированный углеродный энтеросорбент, аргинин, энтеросорбция, иммунокоррекция.

Пестициды относятся к экотоксикантам, применение которых предусмотрено современными промышленными технологиями в животноводстве, растениеводстве, а также в лесном хозяйстве, в медицине и в быту (1). При контакте с пестицидами у животных и человека возникает риск иммунотоксических эффектов, что провоцирует развитие вторичных иммунодефицитов, усугубляющих течение аллергических, инфекционных, онкологических и других заболеваний (1, 2). Пестицидная нагрузка на организм затрудняет серологическую диагностику инфекционных болезней, становясь причиной ложноположительных или отрицательных результатов (3). Острые отравления животных и человека этими соединениями чрезвычайно опасны, так как токсикологическая характеристика большей части пестицидов недостаточно изучена, антидотная терапия не разработана, не установлены отдаленные последствия их действия. Лечение при интоксикациях базируется на методах эфферентной, симптоматической и патогенетической терапии.

В связи с этим представляло интерес изучение влияния интоксикации дельтаметрином с последующей энтеросорбцией на содержание провоспалительных цитокинов и лактоферрина в крови, что и послужило целью нашего исследования.

Методика. В эксперименте исследовали углеродный энтеросорбент, модифицированный аргинином. Исходным материалом был выбран энтеросорбент углеродный ЗООКАРБ (ТУ 9318-003-71069834-2006), разработанный и полученный в Институте проблем переработки углеводов СО РАН (ИППУ СО РАН) по технологии матричного синтеза из пористо-

го углеродного материала (4, 5).

Модифицирование проводили в несколько этапов: 1-й этап — пропитка углеродного сорбента 15 % раствором аргинина (рН 10,76) (соотношение сорбент:раствор — 1:5, время пропитки 1 ч, температура 20 ± 2 °С, перемешивание); 2-й — сушка пропитанного сорбента при температуре 105 ± 2 °С до постоянной массы; 3-й — термообработка высушенного сорбента в потоке инертного газа в течение 15 мин при температуре 160 ± 2 °С (для закрепления модификатора на углеродном материале); 4-й этап — повторная пропитка и сушка сорбента при условиях, аналогичных описанным для 1-го и 2-го этапов модифицирования.

Эксперимент выполняли на белых беспородных крысах-самцах с массой тела 180-200 г. Из животных были сформированы три группы по 7 особей в каждой. В качестве токсиканта использовали Butox 50 («Intervet», Нидерланды) с содержанием 5 % синтетического пиретроида дельтаметрина. Препарат вводили в дозе 17,4 мг/кг по действующему веществу ($1/5$ LD₅₀) в соответствии с параметрами токсичности для крыс, представленными в базе данных физико-химических и экотоксикологических свойств пестицидов — Pesticide Properties Database, разработанной исследовательским отделом сельского хозяйства и окружающей среды (AERU — Agriculture & Environment Research Unit) в Университете Хартфордшира (the University of Hertfordshire, Великобритания). Животным из I и II групп вводили раствор пестицида внутрижелудочно однократно через зонд. При этом крысам из II группы через 1 сут после однократного введения пестицида был назначен курс энтеросорбции с применением модифицированного аргинином углеродного энтеросорбента в дозе 300 мг/кг один раз в сутки в течение 5 сут. Крысы из III группы были контрольными и получали внутрижелудочно через зонд сопоставимый объем питьевой воды. Через 5 сут животных выводили из опыта под эфирным наркозом.

Содержание цитокинов в плазме крови определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа на автоматическом ИФА-анализаторе Multiscan-EX («Labsystems», Финляндия). Количество интерлейкина 1 β (IL-1 β), хемокина — интерлейкина 8 (IL-8), фактора некроза опухоли (TNF- α) и лактоферрина в плазме крови крыс определяли с применением наборов реагентов ООО «Протеиновый контур» (г. Санкт-Петербург).

Статистическую обработку данных проводили в программе Statistica v. 6.0 («StatSoft», США), в которой выполняли парный сравнительный анализ для независимых выборок (Mann-Whitney U test), при этом определяли медиану (*Me*) и межквартильный размах (P₂₅; P₇₅).

Результаты. Острое отравление животных сопровождалось развитием характерной клинической картины. У крыс отмечали повышенную саливацию, выраженное беспокойство, животные периодически зарывались в подстилку. Периоды чрезмерного возбуждения сменялись угнетением, при этом крысы группировались и сохраняли неподвижность. В первые часы интоксикации наблюдали повышенную реакцию на звуковые и тактильные раздражители, груминг отсутствовал. Поведение интактных животных из III группы после введения им питьевой воды через зонд не изменилось, они проявляли интерес к предложенному корму и воде. На 2-е сут эксперимента клинически значимые различия между животными из опытных групп и интактными крысами практически отсутствовали. Особи в первых двух группах совершали груминг, интересовались свежими порциями корма, хотя оставались несколько менее активными. На 3-и сут и до окончания опыта видимых изменений в поведении животных всех трех групп не регистрировали (отметим, что специальных ме-

тодик изучения поведенческих реакций мы не применяли).

В период эксперимента гибели животных не отмечали. Однако при отсутствии клинических признаков отравления регистрировали достоверные изменения иммунологических показателей (табл.), свидетельствующие о вовлечении иммунной системы в патологический процесс и нарушении гомеостаза у животных в моделируемых условиях.

Содержание (пг/мл) цитокинов и лактоферрина в плазме крови крыс при интоксикации и энтеросорбции ($n = 7$)

Группа	IL-1 β	IL-8	TNF- α	Лактоферрин
I (дельтаметрин)	22,35* (21,5; 25,4)	6,04* (5,8; 6,9)	11,18* (10,9; 12,2)	140,11* (131,9; 153,4)
II (энтеросорбция на фоне интоксикации)	6,72** (5,9; 6,9)	3,12** (2,9; 3,2)	5,08** (4,7; 5,9)	67,53** (63,2; 70,2)
III (контроль)	2,74 (2,4; 2,9)	2,62 (2,4; 2,9)	2,82 (2,4; 2,9)	48,27 (42,2; 56,8)

Примечание. IL-1 β , IL-8, TNF- α — соответственно интерлейкин 1 β , интерлейкин 8 и фактор некроза опухоли α . Приведены значения Me (P_{25} ; P_{75}).
 * $P_{m-w} < 0,01$ (при сравнении с группой контроля),
 ** $P_{m-w} < 0,01$ (относительно показателей животных, подвергшихся интоксикации).

Известно, что физиологическая роль провоспалительных цитокинов заключается в мобилизации адаптационных возможностей организма. Указанные цитокины стимулируют пролиферацию и кооперацию Т- и В-лимфоцитов, повышают их функциональную активность, усиливают синтез адгезивных молекул, обладают пирогенными свойствами, активируют синтез белков острой фазы, принимают участие в реализации реакций как специфического, так и неспецифического иммунитета, способствуют кооперации иммунной, нервной и эндокринной систем (6, 7). Общее свойство этой группы иммунорегуляторных молекул — их участие в формировании каскада воспалительных реакций, но основная опасность при развитии патологического процесса заключается в чрезмерном увеличении концентрации провоспалительных цитокинов, когда их протективный иммуностимулирующий эффект нивелируется и начинают преобладать системные нежелательные процессы, сопровождающиеся гиперкатаболическим и гипердинамическим эффектами (8). Учитывая тесную взаимосвязь иммунной и нервной систем, следует предполагать потенцирование токсичности дельтаметрина — пестицида нейротоксического действия.

Лактоферрин плазмы крови синтезируется в нейтрофильных гранулах, откуда и поступает в системный кровоток, причем во время воспаления количество высвобождающегося лактоферрина возрастает в десятки раз (9, 10). Увеличение концентрации сывороточного лактоферрина при воздействии дельтаметрина можно расценивать как результат развития воспалительного процесса в качестве защитной реакции на инфекционную агрессию со стороны желудочно-кишечного тракта вследствие нарушения барьерной функции кишечника при остром пероральном отравлении. Комплексообразующая способность лактоферрина способствует осуществлению процессов детоксикации, транспорта и представляет собой один из элементов его антимикробной активности (11).

Для минимизации постинтоксикационных осложнений и восстановления иммунной реактивности была проведена энтеросорбция с применением модифицированного аргинином углеродного энтеросорбента, детоксицирующий эффект которого способствовал у животных II группы снижению количества провоспалительных цитокинов и лактоферрина, приближая эти показатели к значениям в контрольной группе. Известно, что один из принципов терапии при отравлениях — ускоренное выведение яда из организма (12). Однако энтеросорбция была назначена со 2-х сут после интоксикации, когда всасывание пестицида из желудочно-кишечного трак-

та в кровь уже произошло, что позволило оценить иммунокорректирующие эффекты модифицированного сорбента, которые обусловлены не непосредственной сорбцией токсиканта в желудочно-кишечном тракте, а его влиянием на интенсивность энтерогепатической и энтерогематической циркуляции пестицида как важной составляющей процессов естественной детоксикации организма (13). Кроме того, аргинин, высвобождающийся из матрицы сорбента, модулирует функционирование эндокринной и иммунной систем, снижает проницаемость интестинального барьера для бактерий (14, 15). При этом, будучи субстратом для продукции NO, аргинин стимулирует неангиогенез (16), что способствует форсированному восстановлению кровеносного русла после острой интоксикации.

Таким образом, при интоксикации крыс дельтаметрином в дозе 17,4 мг/кг ($1/5$ LD₅₀) в сыворотке крови животных наблюдалось повышение концентрации IL-1 β , IL-8, TNF- α и лактоферрина. Энтеросорбция с использованием модифицированного аргинином энтеросорбента при остром отравлении дельтаметрином способствует снижению количества провоспалительных цитокинов и лактоферрина, что указывает на возможность клинического применения энтеросорбции.

¹ФГБУН Институт проблем переработки углеводов СО РАН,
644040 Россия, г. Омск-40, ул. Нефтезаводская, 54,
e-mail: val@ihcp.ru, medugli@ihcp.ru, medugli@rambler.ru;

Поступила в редакцию
20 августа 2013 года

²ГНУ Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности Россельхозакадемии,
141142 Россия, Московская обл., Шелковский р-н,
пос. Биокombината, 17,
e-mail: fun181@mail.ru;

³ФГБОУ ВПО Омский государственный аграрный университет им. П.А. Столыпина,
644122 Россия, г. Омск, ул. Октябрьская, 92,
e-mail: gerliud@mail.ru, vsed@mail.ru;

⁴ГБОУ ВПО Омская государственная медицинская академия Министерства здравоохранения РФ,
644001 Россия, г. Омск, ул. 20 лет РККА, 15,
e-mail: dolgih-ti@mail.ru

Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology], 2013, № 6, pp. 100-104

PRO-INFLAMMATORY CYTOKINS AND LACTOFERRINE IN BLOOD OF RATS AT AN ACUTE POISONING WITH DELTAMETRIN AND AT THE ENTEROSORBTION

V.A. Likhobolov¹, Yu.N. Fedorov², L.G. P'yanova¹, L.K. Gerunova³,
T.I. Dolgikh⁴, T.V. Gerunov³

¹Institute of Hydrocarbon Processing, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, 54, ul. Neftzavodskaya, Omsk-40, 644040 Russia, e-mail: val@ihcp.ru, medugli@ihcp.ru, medugli@rambler.ru;

²All-Russian Research and Technological Institute of Biological Products, Russian Academy of Agricultural Sciences, 17, pos. Biokombinata, Shchelkovo Region, Moscow Province, 141142 Russia, e-mail fun181@mail.ru;

³P.A. Stolypin Omsk State Agrarian University, 92, ul. Oktyabrskaya, Omsk, 644122 Russia, e-mail gerliud@mail.ru, vsed@mail.ru;

⁴Omsk State Medical Academy, Ministry of Healthcare of the Russian Federation, 15, ul. 20 let RKKA, Omsk, 644001 Russia, e-mail dolgih-ti@mail.ru

Received August 20, 2013

doi: 10.15389/agrobiolgy.2013.6.100eng

Abstract

In animals and humans after a contact with pesticides, there is a risk of immunotoxic effects, which causes the secondary immunodeficiencies. The pesticide load on the organism makes it difficult to conduct the serological indication of infectious diseases, becoming a cause of false positive or negative results. The treatment of intoxication is based on the methods of efferent, sympto-

matic and pathogenetic therapy. We investigated the modified carbon enterosorbent, obtained after impregnating a 15 % solution of arginine, on the model objects (laboratory mongrel male rats with the mass of 180-200 g). Enterosorbtion was appointed 2 days after the intoxication, when the absorption of pesticide from the gastrointestinal tract into the blood stream has occurred. Thus, it was possible to evaluate immunocorrecting effects of the modified sorbent, which were caused not by sorbtion of toxicant in the gastrointestinal tract, but by its influence on the intensity of enterohepatic and enterogemetic pesticide circulation. It was established that the intoxication of rats with deltametrin in the dose of 17.4 mg/kg ($1/5$ LD₅₀) caused the rise of the IL-1 β , IL-8, TNF- α and lactoferrine levels in blood. Participation in formation of a cascade of inflammatory reactions is a common property of this group of immunoregulatory molecules. But under the excess of pro-inflammatory cytokines, the undesirable processes accompanied with the hypercatabolic and hyperdynamic effects become dominant. The increase of serum lactoferrine concentration in animals exposed to deltametrin may be regarded as a result of inflammatory process. The arginine-modified carbon sorbent used for enterosorbtion leveled the described changes.

Keywords: deltamethrin, proinflammatory cytokines, lactoferrin, modified carbon enterosorbent, arginine, enterosorbtion, immunotherapy.

REFERENCES

1. Gerunov T.V., Red'kin Yu.V., Gerunova L.K. *Uspekhi sovremennoi biologii*, 2011, 131(5): 474-482.
2. Khaitov R.M., Pinegin B.V., Istamov Kh.I. *Ekologicheskaya immunologiya* [Ecological immunology]. Moscow, 1995.
3. Gerunova L.K., Okolelov V.I., Boiko T.V. *Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya* [Agricultural Biology], 2003, 4: 75-78.
4. Surovkin V.F. *Rossiiskii khimicheskii zhurnal*, 2007, LI(4): 92-97.
5. P'yanova L.G. *Khimiya v interesakh ustoychivogo razvitiya*, 2011, 19(1): 113-122.
6. Kalinina N.M., Ketlinskii S.A., Okovityi S.V., Shulenin S.N. *Zabolevaniya immunnoi sistemy. Diagnostika i farmakoterapiya* [Immune system diseases. Diagnostics and pharmacotherapy]. Moscow, 2008.
7. Leskov V.P., Cheredeev A.N., Gorlina N.K., Novozhenov V.G. *Klinicheskaya immunologiya dlya vrachei* [Clinical immunology for physicians]. Moscow, 2005.
8. Leiderman I.N. *Vestnik intensivnoi terapii*, 1999, 2: 5-10.
9. Leffell M.S., Spitznagel J.K. Fate of human lactoferrin and myeloperoxidase in phagocytosing human neutrophils: effects of immunoglobulin G subclasses and immune complexes coated on latex beads. *Infect. Immun.*, 1975, 12(1/4): 813-820.
10. Maallen H., Sheppard K., Fletcher J. The discharge of primary and secondary granules during immune phagocytosis by normal and chronic granulocytic leukaemia polymorphonuclear neutrophils. *Br. J. Haematol.*, 1982, 51(1/2): 201-208.
11. Oram J.D., Reiter B. Inhibition of bacteria by lactoferrin and other iron-chelating agents. *Biochim. Biophys. Acta*, 1968, 170(1/2): 351-365.
12. *Federal'noe rukovodstvo po ispol'zovaniyu lekarstvennykh sredstv (formulyarnaya sistema)* /Pod redaktsiei A.G. Chuchalina, V.V. Yasnetsova [Federal instruction on the use of medicines. A.G. Chuchalin, V.V. Yasnetsov (eds.)]. Moscow, 2012.
13. *Meditinskaya toksikologiya: natsional'noe rukovodstvo* /Pod redaktsiei E.A. Luzhnikova [Medical toxicology national guideline. E.A. Luzhnikov (ed.)]. Moscow, 2012.
14. Sheibok M.V., Pavlyukovets A.Yu. *Vestnik Vitebskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta*, 2013, 12(1): 6-13.
15. Abumrad N., Barbul A. Arginine therapy for acute myocardial infarction. *JAMA*, 2006, 295(18): 2138-2139.
16. Pashkov D.V., Artyushkova E.B., Pokrovskii M.V. et al. *Biomeditsina*, 2006, 1(4): 103-104.